利用γ線誘導染色體轉座減少西瓜種子數之研究

I 小鳳西瓜二對染色體轉座同型結合系統之育成

邱阿昌[2] 陳文郁[3]

一、緒 言

三倍體無子西瓜由 Kihara 等[6]首先研究成功後，現已成爲商品。在臺灣大型三倍體西瓜經郁宗雄等[9,15,16]之研究改進，現已普遍生產，並大量外銷，近年來小型西瓜風行一時，深受生產者及消費者所歡迎，但嫌種子太多，鳳山熱帶園藝試驗分所有鑑於斯，乃一方面從事三倍體小型無子西瓜之育種，一方面從事以染色體轉座方法育成少種子 (Semi—seedless) 之小型西瓜。

利用人工方法誘導染色體轉座 (Interchange or Translocation) 而能降低配偶子稔性及減少種子數之報告甚多， Stadler[13] 及 Anderson[1] 在玉米，Burnham 及 Cartledge[4]，Sisodia 及 Shebeski[12] 在大麥， Evans[5] 在蠶豆，以及另外幾種植物均曾以放射線處理花粉或種子而誘導染色體轉座。 Burnham (1956, 1962)[2][3] 曾論及轉座引起之半稔性之利用價値，利用染色體轉座而減少西瓜種子數，曾由 Oka 等[8] 以及 Simotsuma[10][11] 等先後試驗及討論，雖未育成商業用之西瓜品種，但其誘導轉座而能減少種子數已得到證實。

二、材料及方法

以固定之小鳳西瓜乾燥種子，用γ線處理，其照射量如表 1。

表 1 西瓜種子 γ 線照射量

Table 1. The dosage of γ—ray irradiation on watermelon seeds

處理編號 Treatment No.	全劑量 Total dose	線量率 Intensity	照射時間 Radiation time	照射種子量 Amount of seeds
	kr	r/min.		g
R—5	5	520	9′37″	10
R—10	10	520	19′14″	10
R—15	15	520	28′51″	10
R—20	20	520	38′28″	10
R—30	30	520	60′12″	10

處理後之種子於1968年春季播種於室外，開花時檢查其花粉之稔性，選出半稔性株行自交採種，採得之種子於同年秋再行播種，檢查花粉稔性，並選出高稔性株同時進行自交及與未處理之正常小鳳行雜交，1969年春季，將雜交種子播種，調查其花粉稔性，同時部份植株進行株間什交。其後因第一作者赴美進修，暫停試驗兩年，至1971年秋，再將1968年秋季收穫之種子及1969年春季採收之雜交種子再行播種，調查其花粉稔性、種子數及染色體配對情形，其育種步驟如下：

γ 線處理種子→選擇半稔性株（假設爲二對染色體相互轉座異型結合體者）行自交→分離出高稔

本試驗承中國農村復興聯合委員會及臺灣農業研究中心補助經費

1 試驗報告農試字第五五六號

2 臺灣省農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所技士

3 前臺灣省農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所技佐，現任農友種苗公司董事長

性株，並進行自交及與未經放射線照射者雜交→調查雜交 F_1 個體之稔性及染色體行爲，以判定其親本是否爲轉座同型結合體→轉座同型結合系統之育成。

花粉稔性調查以 Aceto Carmine 染色鏡檢，染色體檢查以 Farmer's 液固定花粉母細胞，用 Aceto Carmine 染色，以壓擠法 (Smear method) 鏡檢。

三、結果及討論

(一) 種子照射處理後當代之表現：

西瓜種子，無論乾燥或濕潤情形下，經過放射線處理後，發芽率降低，放射線照射量愈增加，發芽率愈降低，同時發芽後外觀正常幼苗數及成活數亦依照射量之增加而減低。在成活之植株中，其花粉稔性發生變化，未經放射線處理者 (CK)，其花粉之稔性甚高，而且植株間之差異甚少，經檢查47株中，花粉稔性均達90%以上；經放射線處理者，花粉稔性在植株間呈現不同程度之變化，有些植株有90%以上之稔性，有些植株則降至10%以下之稔性（表2及圖2，3，4），同時，在同一植株中亦發現有不同程度之稔性，西瓜主蔓及側蔓之花粉稔性亦有不同，此可能由放射線造成嵌合體 (Radiation chimera) 所致。

表2　照射後種子發芽率及其花粉稔性

Table 2. Seed germination and pollen fertility after irradiation

處理編號 Treatment No.	照射量 Dose kr	播種粒數 No. of seeds sown	發芽 Germinated		成活株數 No. of plants survived	株數 (No. of plant)		
			粒數 No.	%		花粉稔性低 Low ferility 0—30%	花粉半稔性 Semi sterility 31—70 %	花粉稔性高 High ferility 71—100%
R—5	5	200	116	58	101	2	4	95
R—10	10	200	87	44	76	5	7	64
R—15	15	200	65	33	52	15	12	25
R—20	20	200	73	37	48	8	6	34
R—30	30	200	52	26	46	14	9	23
CK	—	50	48	96	47	0	0	47

(二) 半稔性株自交後代之表現：

由表2所示，放射線處理後花粉稔性之高低相差甚大，放射線造成花粉不稔之原因甚多，如染色體構造上發生變化時，諸如缺失 (Deficiencies)、倒置 (Inversions)、轉座 (Translocations) 等均可使花粉稔性降低[14]。本試驗之目的爲利用染色體轉座減少西瓜種子數，故其他造成花粉不稔之原因，姑置不論。假定放射線處理後形成二對染色體間相互轉座之異型結合體 (Translocation heterozygote)（圖1），其花粉即產生部份不稔；在西瓜上，Oka (1967)[8]及 Shimotsuma (1967, 1968)[10][11]分別以 X—rays 及 γ—rays 照射西瓜種子，得到二對染色體之轉座異型結合個體具有半稔性花粉之報告。二對染色體相互轉座，在減數分裂時，如無交叉換位 (Crossing over) 發生時，此轉座染色體則有扭轉(Alternate)、鄰接Ⅰ型 (Adjacent—Ⅰ) 及鄰接Ⅱ型 (Adjacent—Ⅱ) 之配對分離方法，其出現之比率爲2：1：1，然而在鄰接之情形下爲不稔，僅在扭轉之情形下，可得到可稔之花粉，故花粉之稔性只有50%。事實上，交叉換位之發生在所難免，因此其稔性不可能固定爲50% (Kihara 及 Shimotsuma)[7]，故本試驗將花粉稔性定爲30%至70%者爲半稔性株，並假設其爲二對染色體之相互轉座而進行自交。在自交時，發現自交不易結果，同時種子數減少，在所

有處理中，半稔性植株共有38株，採到自交種子之株數僅有17株共24果（表３）。此17株自交種子再行播種，分離出高稔性株，在此高稔性株當中，便有二對染色體之相互轉座同型結合體（Translocation homozygote）植株之可能。

表３　半稔性自交之結果

Table 3. Result of selfing of semi—sterility individuals

處理編號 Treatment No.	半稔性株數 No. of plants with Semi—pollen fertility	自交花數 No. of flowers selfed	結果數 No. of fruit set	採得自交種子之株數 No. of plants having progeny	平均每果種子數 No. of seeds per fruit
R—5	4	9	3	3	104
R—10	7	11	2	2	168
R—15	12	15	7	4	81
R—20	6	21	7	5	65
R—30	9	17	5	3	85
CK	12*	14	13	12	283

*高稔性植株 High pollen fertility plants

如表３，在17株半稔性株上所採得之自交種子各為一系，經播種後，其系統間之花粉稔性不同，有７系統之植株具有高稔性，表示此７系統之染色體可能並未發生轉座，故在本試驗中，將此７系統淘汰；另外10系統之植株表現不同程度之稔性（表４）。在理論上，二對染色體轉座異型結合體自交，其後代應半數為半稔性，另半數為高稔性，而在高稔性株中，有半數為正常株（未轉座），另半數為轉座同型結合體，故轉座同型結合體植株在理論上應佔後代植株之四分之一；但事實上，由於交叉換位之影響，後代之分離常不能依此計算（Kihara 及 Shimotsuma）[7]，況且在本試驗以半稔性株自交，只是假設其為二對染色體異型轉座而已，但究竟是否確為此型轉座，在本試驗由於當時材料有限，不足供 PMC 之分析而未得到答案。故本試驗必須將具有分離性10系統所分離之後代，選出高稔性株，一方面進行自交，以保存該系統之後代，同時必需與未經處理株（CK）行雜交，以明瞭染色體是否為轉座同型結合或未曾轉座；因為轉座同型結合株與未轉座株（CK）雜交之 F_1，產生轉座異型結合體之半稔性，而未轉座株與 CK 株雜交，仍為未轉座之高稔性 F_1 株。

表４　半稔性株自交後代之稔性分離情形

Table 4. The segregation of pollen fertility in the progeny from selfing of semi-sterility individuals

親本編號 Parents No. / 後代 Progeny	R—5—13	R—5—44	R—5—48	R—10—6	R—10—40	R—15—2	R—15—9	R—15—21	R—15—30	R—20—7	R—20—14	R—20—18	R—20—24	R—20—28	R—30—5	R—30—11	R—30—16	CK
調查株數 No. of plants investigated	20	20	18	18	20	20	19	20	20	20	20	20	20	20	18	14	20	20
低稔性株數 No. of low fert. plants	0	3	0	0	4	0	0	1	0	0	4	0	0	0	0	2	0	0
中稔性株數 No. of semi—steri. plants	0	9	0	8	4	0	8	9	0	0	6	0	8	0	7	4	5	0
高稔性株數 No. of high fert. plants	20	8	18	10	12	20	11	10	20	20	10	20	12	20	11	8	15	20

(三) 從半稔性株自交之後代選出全稔性株與正常小鳳 (CK) 雜交F_1之稔性：

共有62株具有高稔性者與正常小鳳 (CK) 雜交得到之 F_1 組合，其中有 2 個 F_1 組合之植株均爲低稔性花粉，8 個 F_1組合之植株屬於半稔性花粉，只有 2 個 F_1 組合之植株稔性不穩定，即植株間稔性高低不同；此外有46個組合均表現高稔性。各系統鑑定結果如表 5 。

表 5　分離選出之高稔株與正常小鳳 (CK) 什交之稔性

Table 5. Pollen fertility in F_1 hybrids between the segregation progeny with high pollen fertility and CK

系號 Line	與CK交配株數 No. of plants crossed with CK	F_1 組合數 No. of F_1 Combination with			
		低稔 Low fert.	半稔 Semi—steri.	高稔 High—fert.	分離稔性 Segregation fert.
R—5—44	6	0	1	3	2
R—10—6	6	0	0	6	0
R—10—40	8	0	0	8	0
R—15—9	6	0	2	3	1
R—15—21	6	0	0	6	0
R—20—14	9	0	0	6	3
R—20—24	6	1	2	3	0
R—30—5	5	0	1	4	0
R—30—11	6	1	2	3	0
R—30—16	4	0	0	4	0
CK	1	0	0	1	0

由表 5 觀之，高稔性之 F_1 組合表示其親本並未發生染色體轉座；而表現分離現象之組合，其親本可能係轉座異型結合體，其親本之花粉稔性雖高達81%及87%，按理轉座異型結合體，不可能有如此高之花粉稔性，故眞正原因尚不能瞭解，而半稔性之 F_1 組合之親本，可視爲二對染色體相互轉座之同型結合體，至於低稔性 F_1 組合之親本可能包括更多對染色體轉座之同型結合體，經過 PMC 之鏡檢，發現 8 個 F_1 組合中，有 6 個組合在第一次減數分裂之親交期 (Diakinesis) 或中期 (Metaphase Ⅰ) 呈現一個四價染色體環或鏈 (Ring of ④) 及 9 個二價染色體 (Bivalents)，另兩個F_1組合則未發現四價染色體環；此種情形在農友種苗公司育成之二對染色體轉座同型結合之三系統之 F_1 組合，亦均發現有四價染色體環。至於 2 個低稔性 F_1 組合中，有一個 F_1 組合僅發現一個四價染色體環，另一組合則發現有二個四價染色體環 (表 6 及圖 7 —10) ，其種子數之多少亦與四價染色體環之有無及多少相吻合，即每果平均發育之種子數如具有一個四價染色體環者 (二對染色體相互轉座異型結合體) ，則較未轉座者 (CK) 大約減少38%，而有二個染色體環者約可減少55% (表 6 及圖5 ，6) ，此與 Oka 等氏 及Shimotsuma [10] [11] 之報告相較，雖所用之品種不同，但其減少發育種子數之趨向則相似。

(四) 轉座同型結合系統自交之稔性：

所有能生產具有二對染色體轉座之異型結合親本 (即二對染色體相互轉座同型結合體) 之自交後代，均具有高稔性之花粉，而且有普通之種子數，此表示將來自交系統之保存及生產 F_1 組合均無問題，但二個二對染色體轉座同型結合體，自交之種子數不多，故其轉座是否安定，尚待進一步觀察 (

表6）。

表6 轉座同型系統及其特性

Table 6. Some characteristics of translocation homozygotes and their F_1 hybrids

同型轉座系統 Translocation homozygote line	自交後代 Selfing progeny		與 CK 什交 F_1 (F_1 Combination)		
	花粉稔性 Pollen fert. (%)	每果種子數 No. of seeds per fruit	花粉稔性 Pollen fert. (%)	每果種子數 No. of seeds per fruit	染色體配對情形 Chromosome configurations
R—5—44—4	96	223	92	274	11Ⅱ
R—15—9—3	94	241	62	104	④+9Ⅱ
R—15—9—5	97	294	94	208	11Ⅱ
R—20—24—1	96	206	52	151	④+9Ⅱ
R—20—24—2	93	306	57	144	④+9Ⅱ
R—20—24—5	98	238	64	119	④+9Ⅱ
R—30—5—2	92	284	97	286	11Ⅱ
R—30—11—2	95	212	53	121	④+9Ⅱ
R—30—11—3	86	243	56	94	④+9Ⅱ
R—30—11—4	85	144	32	63	④+④+7Ⅱ
F—73—B—4*	97	265	58	173	④+9Ⅱ
F74—A—2*	96	192	62	158	④+9Ⅱ
F72—A—5*	98	206	59	161	④+9Ⅱ
CK	96	278	97	266	11Ⅱ

*農友公司育成之系統。Lines from Known-You Seed Co.

（五）多對染色體轉座之異型結合體：

據 Shimotsuma[11] 之報告，旭大和西瓜，如轉座之染色體對數增加時（如④+④，④+④+④……等），則種子數依轉座對數之增加而減少，同時如果多對染色體發生相互轉座時（例如⑥，⑧……等），則種子數更減少，此種現象在本試驗中，以兩個具有半稔性之植株雜交之後代中，亦出現④+④+7Ⅱ，④+④+④+5Ⅱ及⑥+④+④+4Ⅱ等多對染色體轉座之個體，其花粉稔性及種子數則減少甚多（表7及圖10—12）；但其親本均爲半稔性株，故不能視爲轉座同型結合，其後代仍會分離，有待以後繼續分離固定。

表7 多對染色體轉座異型之稔性

Table 7. Pollen fertility and seed number of multi-translocation individuals

染色體配對情形 Chromosome configuration	來源* Parents	花粉稔性 Pollen fertility	平均種子數 Seeds No.
		%	
④+④+7Ⅱ	R—15—21×R—30—11	41	79
④+④+④+5Ⅱ	R—15—21×R—30—11	36	64
⑥+④+④+4Ⅱ	R—30—5×R—30—11	14	28

*親本爲半稔性 Parents with semi-sterility.

綜觀上述，鳳山分所育成之6個系統及農友公司育成之3個系統具有二對染色體相互轉座之同型結合，至於更多對染色體轉座之同型結合系統，有待今後之繼續分離固定，對於轉座系統之結果力、品質等問題亦須繼續調查，以明瞭其實用價值。

THE REDUCTION OF SEED NUMBER OF WATERMELON THROUGH CHROMOSOMAL TRANSLOCATION INDUCED BY γ-RAY IRRADIATION

I. Development of Homozygotes of One Translocation in Hsiao-feng Variety

by

A-chang Chiou, Wen-yu Chen

Summary

For the purpose of reducing the seed number of small-size watermelon by chromosomal translocation, dry seeds of Hsiao-feng variety were irradiated with 5, 10, 15, 20, and 30 Kr doses of γ-rays. The results showed that irradiation produced some harmful effects on seed germination and the rate of seedling survival. The higher the dose of irradiation used, the more harmful effects were observed. Pollen abortions were found in some survival plants and selfing was made with plants showing semi-sterility (Table 2) . It was rather difficult to obtain these selfing fruits and there were less seeds in the fruits (Table 3) .

The progeny from selfs of the semi-sterile individual showed segregation of pollen fertility (Table 4, Fig. 2-4) . The high pollen fertility plants selected in the progeny were selfed as well as crossed with untreated plants CK to produce F_1 hybrids. The pollen fertility of these F_1 hybrids was examined. Two F_1 hybrids with low pollen fertility and eight hybrids with semi-sterility may be resulted from chromosomal translocation heterozygote (Table 5) . After PMC investigation, ④+9 II Chromosome configurations in six of the ten F_1 hybrids developed by Fengshan Trop. Hort. Exp. Sta. were found. The same results were also obtained with three F_1 hybrids developed by Known-You Seed & Nursery Co. In addition, ④+④+7 II configuration was found in one F_1 hybrids which were translocation heterozygotes (Table 6, Fig. 5-9) . Therefore, it is suggested that the parents of these F_1 hybrids are likely translocation homozygote which showed normal pollen fertility as well as normal amount of seeds (Table 6) .

Another three F_1 hybrids obtained from the crossed between semi-sterility individuals showed much lower pollen fertility and seed number. Their chromosome configurations were ④+④+7 II, ④+④+④+5 II, and ⑥+④+④+4 II respectively (Table 7, Fig. 10-12).

四、参考文獻

1. Anderson, E. G. (1935) Chromosomal interchange in maize. Genetics 20 : 70-83.
2. Burnham, C. R. (1956) Chromosomal interchange in plants. Bot. Rev. 22 : 419-552.
3. ______, (1962) Discussions in Cytogenetics. Burgess Publ. Co., Minnesota 315pp.
4. ______, & Cartledge, J. L.(1954) A Chromosomal interchange in barley. Cytologia 19 : 191-202.
5. Evans, H. J. (1961) Chromatid aberrations induced by gamma irradiation. I. The structure and frequency of chromatid interchange in diploid and tetraploid cells of *Vicia faba*. Genetics 46 : 257-275.
6. Kihara, H. (1951) Triploid watermelon. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 58 : 217-230.
7. ______, & Shimossuma, M. (1967) The use of chromosomal interchanges to test for crossing over and chromosome segregation. Seiken Ziho 19 : 1-18.
8. Oka, H., Watanabe, T., and Nishyama, I. (1967) Reciprocal translocation as a new approach to breeding seedless watermelon. I. Induction of reciprocal translocation strains by X-ray irradiation. Can. J. Genet. Cytol. 9 : 482-489
9. Shimotsuma, M. (1965) A survey of seedless watermelon breeding and it extension in Taiwan.SeiKen Ziho 17 : 46-54.
10. ______, (1967) Some synthetic multiple interchange stocks of watermelon induced by γ-rays. Chromo. Inform. Serv., Tokyo 8 : 2-4.
11. ______, (1968) Syntheses of some multiple interchange stocks of watermelons induced by γ-rays Seiken Ziho 20 : 47-53.
12. Sisodia, N. S. & Shebeski, L. H. (1965) Synthesis of complete interchange stocks barley (*H. vulgare L.*) . Can. J. Genet. Cytol. 7 : 164-170.
13. Stadler, L. J. (1930) Some genetic effects of X-rays in plants. J. Hered. 21 : 3-19.
14. Wolff, S. (ed.) (1963) Radiation-Induced Chromosome Aberrations. Columbia Univ. Press, New York
15. 郁宗雄，陳文郁 (1960) 三倍體無子西瓜區域試驗及栽培示範報告，鳳山園試所專報21號8pp.
16. ______，(1963) 改進三倍體西瓜種子發芽力及三倍體西瓜果實品質之研究。鳳山園試所專報27號pp.23

圖一、二對染色體轉座模式圖

A. 正常染色體
B. 轉座異型結合體
C. 轉座同型結合體

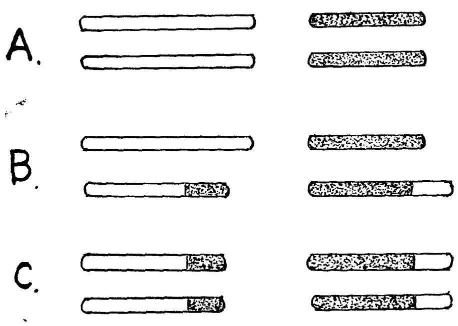

Fig.1 Diagram of translocation involving two pair of choromosomes.
A. Standard chromosomes,
B. Translocation heterozgote,
C. Translocation homozygote.

圖二、正常株之花粉

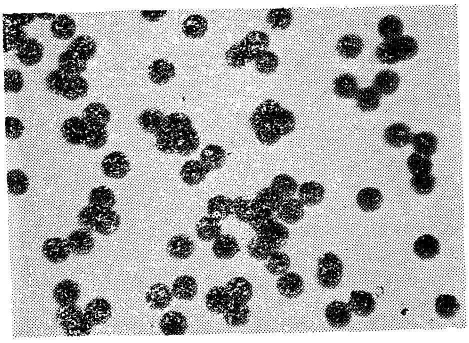

Fig. 2 Normal pollen from untreated plants

圖三、④+9 II之半稔性花粉

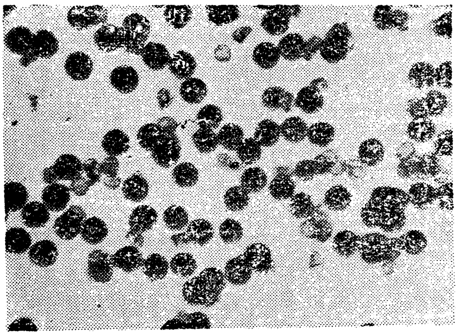

Fig. 3 Pollen from plant of ④+9 II showing semi-sterility

圖四、④+④+7 II之低稔性花粉

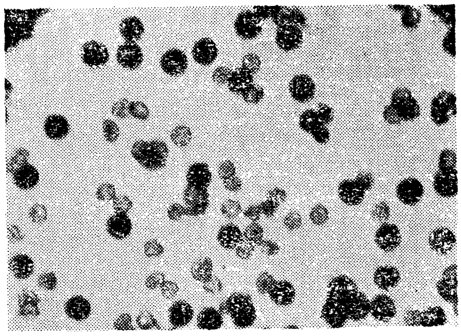

Fig. 4 Pollen from plant of ④+④+7 II showing low fertility.

圖五、染色體轉座種子數減少情形左爲④+④+7 II 轉座者，右爲未轉座者

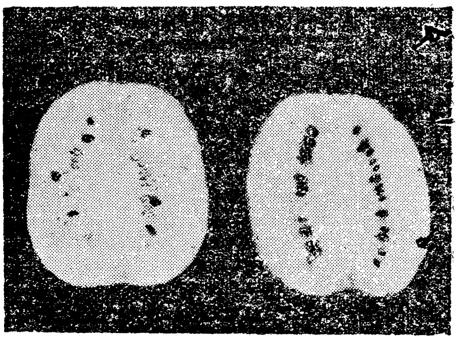

Fig. 5 & 6. Seeds development of watermelon

Left : Fruit from ④+④+7 II plant showing reduced number of normal seeds.

Right : Fruit from untreated plants showing normal seed development.

圖六、同圖五

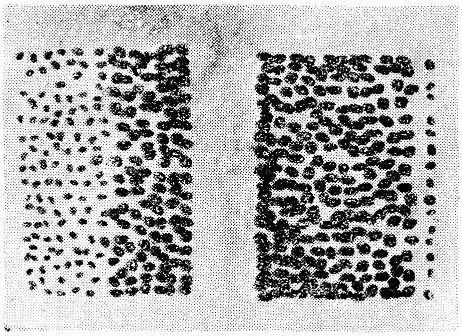

Fig. 6. Ditto

圖七、染色體配對情形 (11 II)

Fig. 7 Chromosome configurations of PMC at metaphase I (11 II)

圖八、染色體配對情形 (④+9 II)

Fig. 8. Ditto (④+9 II)

圖九、染色體配對情形（④+9 II）

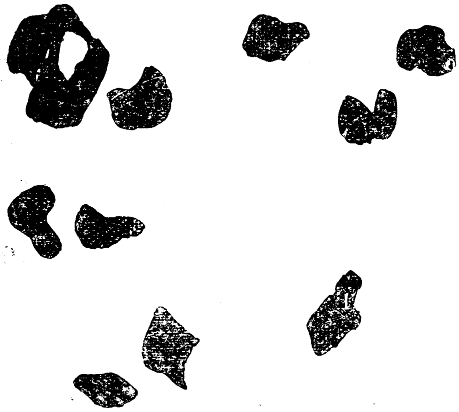

Fig. 9. Ditto (④+9 II)

圖十、染色體配對情形（④+④+7 II）

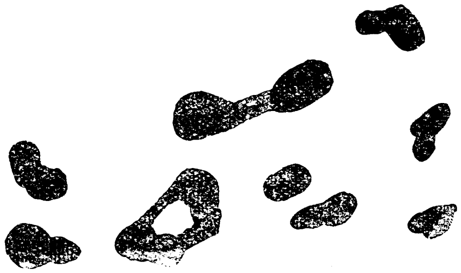

Fig. 10 Ditto (④+④+7 II)

圖十一、染色體配對情形（④+④+④+5II）

Fig. 11 Ditto (④+④+④+5 II)

圖十二、染色體配對情形 （⑥+④+④+4 II）

Fig. 12 Ditto (⑥+④+④+4 II)